

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année Scolaire 1923-1924 — N° 72

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
de l'Action Physiologique
DE
L'INSULINE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 29 Janvier 1924

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Marc CHAMBON

Né le 12 Mai 1897, à Périgueux (Dordogne)

Licencié ès Sciences

Pharmacien de 1^{re} Classe

Ex-Chef de Laboratoire de Clinique Médicale

Préparateur de la Chaire de Chimie Organique et Toxicologie
à la Faculté de Médecine

Pharmacien-Adjoint des Hôpitaux



LYON

IMPRIMERIE L. BASCOU

42-44, Rue Sala, 42-44

—
Janvier 1924

CONTRIBUTION A L'ETUDE
de l'Action Physiologique
DE
L'INSULINE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année Scolaire 1923-1924 — N° 72

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
de l'Action Physiologique
DE
L'INSULINE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 29 Janvier 1924

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Marc CHAMBON

Né le 12 Mai 1897, à Périgueux (Dordogne)

Licencié ès Sciences

Pharmacien de 1^{re} Classe

Ex-Chef de Laboratoire de Clinique Médicale

Préparateur de la Chaire de Chimie Organique et Toxicologie
à la Faculté de Médecine

Pharmacien-Adjoint des Hôpitaux



LYON

IMPRIMERIE L. BASCOU

42-44, Rue Sala, 42-44

—
Janvier 1924

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire : M. HUGOUNENQ
Doyen MM. J. LEPINE.
Assesseur ROQUE.



PROFESSEURS HONORAIRES

MM. AUGAGNEUR, CAZENEUVE, BEAUVISAGE,
 LACASSAGNE, TESTUT, FLORENCE (A.), TEISSIER.

PROFESSEURS

Cliniques médicales.	MM. BARD.
Cliniques chirurgicales	ROQUE.
Clinique obstétricale et Accouchements.	TIXIER.
Clinique ophtalmologique	BÉRARD.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	COMMANDEUR
Clinique neurologique et psychiatrique.	ROLLET.
Clinique des maladies des enfants.	NICOLAS.
Clinique des maladies des femmes.	LEPINE (J.).
Clinique d'oto-rhino-laryngologie.	WEILL.
Clinique des maladies des voies urinaires.	POLLOSSON (A.).
Clinique chirurgicale, infantile et orthopédie	LANNOIS.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie	ROCHET.
Chimie biologique et médicale.	NOVÉ JOSSERAND
Chimie organique et Toxicologie	CLUZET.
Matière médicale et Botanique	HUGOUNENQ.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.	MOREL.
Anatomie	BRETIN.
Histologie.	GUIART.
Physiologie	LATARJET.
Pathologie interne.	POLICARD.
Pathologie et Thérapeutiques générales	DOYON.
Anatomie pathologique	COLLET.
Chirurgie opératoire	MOURIQUAND.
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie.	PAVIOT.
Médecine légale	VILLARD.
Hygiène	ARLOING (F.).
Thérapeutique, Hydrologie et Climatologie.	MARTIN (Etienne).
Pharmacologie	COURMONT (P.).
	PIC.
	X.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours de Pathologie externe.	VALLAS.
— Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN.
— Chimie minérale	BARRAL.
— Urologie	GAYET.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Anatomie topographique.	PATEL.
Orthopédie	LAROYENNE
Puériculture et Hygiène de la première enfance	CHATIN
Chirurgie expérimentale	LERICHE.
Stomatologie	TELLIER.

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
NOGIER	COTTE	CORDIER (V.)	MAZEL
GARIN	DUROUX	ROUBIER	SANTY
SAVY	TRILLAT	FAVRE	DUNET
FROMENT	SARVONAT	BONNET	CHALIER (André)
THÉVENOT (Lucien)	FLORENCE (G.)	RHENTER	CHALIER (Joseph)
PIÉRY	ROCHAIX	LEULIER	NOEL
			CORDIER (Pierre)

M. BAYLE, *Secrétaire*.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. ARLOING, *Président* ; BARRAL, *Assesseur* ;
 MM. CADE et THÉVENOT Lucien, *Agrégés*.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MON GRAND-PÈRE

A MA GRAND'MÈRE

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

En affectueux hommage de profonde
reconnaissance.

A MON FRÈRE ET A MA SŒUR

A NOTRE MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. TEISSIER

Professeur de Clinique Médicale
Associé National de l'Académie de Médecine
Commandeur de la Légion d'Honneur

A NOTRE PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR ARLOING

Professeur de Médecine Expérimentale
Correspondant National de l'Académie de Médecine
Chevalier de la Légion d'Honneur

Il nous a fait l'honneur d'accepter la
présidence de notre thèse. Nous le prions
de bien vouloir trouver ici l'expression
de notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR E. BARRAL

Professeur de Chimie Minérale
Chevalier de la Légion d'Honneur

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ CADE
Médecin des Hôpitaux

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ THÉVENOT

A NOTRE MAÎTRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ALBERT MOREL

*Professeur de Chimie Organique
Chevalier de la Légion d'Honneur*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR COUVREUR

*Professeur de Physiologie générale à la Faculté des Sciences
Chevalier de la Légion d'Honneur*

AVANT-PROPOS

Si la thèse marque la fin des études médicales, c'est aussi une liquidation de tout ce qui prolonge l'existence du collégien, au moment où l'on ne pense pas encore que viennent de s'écouler peut-être les meilleures années de notre vie. Mais le sourire de satisfaction se fige vite devant l'incertitude de l'avenir. Et, de même qu'un voyageur sur le point d'entreprendre de longues pérégrinations vérifie ses moyens de route, c'est aussi pour nous l'heure d'inventorier tout ce que nous avons reçu de sages enseignements, de bons conseils et de profonds aperçus sur la science de la vie ; et notre gratitude va vers les Maîtres qui, aux différentes époques de notre vie d'étudiant, nous ont guidé et éclairé de leur bienfaisante expérience.

C'est d'abord à notre maître, le Professeur J. Teissier, dont, pendant plus de cinq ans, nous avons eu l'honneur d'être l'élève, puis le chef de laboratoire. Il nous serait impossible d'acquitter le lourd tribut de reconnaissance pour toute la bienveillance et l'inal-

térable bonté qu'il nous manifesta, et nous gardons en nous l'image d'un maître aimé, parce qu'il est bon.

Puis, c'est à M. le Professeur Barral, qui fut, à l'Hôpital Desgenettes, notre premier initiateur à la chimie analytique et sut nous inculquer, avec l'esprit de méthode, le sens de la rigueur et de l'honnêteté scientifique qu'il porte si haut.

Nous remercions aussi bien vivement M. le Professeur Roque pour la faveur qu'il nous a faite en nous laissant expérimenter dans son laboratoire.

Nous prions MM. les Docteurs Goyet, médecin des Hôpitaux, Mayet, chargé du cours d'anthropologie à la Faculté des Sciences, et Bost, docteur ès sciences, de trouver ici l'hommage de notre gratitude pour l'amitié dont ils nous ont honoré et aussi pour les nombreux documents qu'ils nous ont procurés.

En M. Boulud, pharmacien-chef des Hôpitaux, nous avons eu un guide dont la compétence en la matière ne le céda qu'à la bienveillance et à l'amabilité avec laquelle il nous offrit sa collaboration. Nous nous plaçons à lui rendre un public hommage; qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.

Nous ne saurions terminer sans remercier tous ceux qui, à divers degrés, nous ont prêté leur collaboration et en particulier le Docteur de Rougemont, interne des Hôpitaux, pour l'aide toujours aimable qu'il voulut bien nous porter dans les pancréatectomies.

INTRODUCTION

La thérapeutique du diabète vient de s'enrichir, par la brillante découverte des auteurs canadiens Banting, Best et Macleod, d'un agent physiologique nouveau : l'Insuline, dont on n'est déjà plus à compter les cures éclatantes. De jour en jour, son action se précise et son utilisation se réglemeute.

Pour le biologiste, l'Insuline est, en même temps que la solution élégante apportée au problème de la recherche et du maniement facile de la sécrétion interne du pancréas, le moyen de suivre de plus près les étapes du catabolisme des hydrates de carbone.

Il nous a paru intéressant de proposer une explication au phénomène si frappant de l'hypoglycémie qui suit l'injection d'Insuline. La question est très complexe ; la solution que nous envisageons est pleine d'incertitude, mais elle a la valeur d'un fait et situe un peu mieux le problème, au niveau du muscle.

Dans ce travail, avant d'aborder nettement le sujet, nous avons tenu à exposer la genèse de l'Insuline et

à montrer la place qui revient aux devanciers, et en particulier à l'Ecole lyonnaise, avec Chauveau et R. Lépine, sans avoir nullement l'intention de diminuer en rien tout ce qu'il y a de mérite dans l'œuvre des heureux lauréats du prix Nobel.

Dans un troisième chapitre, nous avons décrit la préparation et le titrage de l'Insuline qui a servi à nos expériences.

Puis, dans le chapitre IV, consacré à notre contribution, nous avons exposé notre problème, précisé la technique utilisée et donné les résultats.

Enfin, nous avons réservé un chapitre spécial de critique, où nous passons en revue quelques-unes des explications les plus modernes.

CHAPITRE PREMIER

Évolution des Connaissances sur le Diabète Pancréatique

Pour expliquer l'avènement de l'Insuline, il est utile de rappeler la filiation des faits dont la découverte de cet extrait pancréatique semble l'aboutissant naturel et que tant de savants français, et en particulier l'école lyonnaise, ont contribué à édifier.

Sans remonter (1) aux premières conceptions de Bouchardat, fondées sur la fréquence de l'atrophie du pancréas chez les diabétiques, mais que ne confirmèrent pas ses essais malheureux d'ablation de cette glande, à la façon de Haller; c'est Lancereaux (2) qui, en 1877, base sur des considérations anatomo-cliniques la notion du diabète maigre pancréatique; il le décrit à l'Académie de Médecine, d'une façon simple mais séduisante.

Survenant après les multiples interprétations du diabète sucré que devaient fatalement faire éclore les récentes découvertes de Claude Bernard, de Chauveau, cette théorie fut acceptée avec la plus grande facilité.

Les critiques cependant ne manquèrent pas et la question resta sans solution précise.

Puis, en juin 1889, un fait nouveau va définitivement asseoir la théorie du diabète pancréatique : Von Mehring et Minkowski (3) publient une courte note où chaque phrase est un fait lumineux. Après bien d'autres, ils enlevèrent le pancréas à des chiens et eurent des succès opératoires qui leur permirent d'examiner les troubles consécutifs, pendant un laps de temps assez long : glycosurie, polyurie, polyphagie, amaigrissement très prononcé, acétonurie même, que les travaux antérieurs de Minkowski sur l'acide β -oxybutyrique isolé par lui, leur permettaient de mieux saisir. Ils éliminent le rôle du système nerveux et envisagent même les troubles de l'élaboration des matières grasses et protéiques.

Ils constatent aussi que ce diabète fait défaut chez l'animal qui a conservé un fragment de glande, même privée de conduit excréteur. Mais ils n'accompagnent d'aucun commentaire leur découverte.

Quelques mois plus tard, il était réservé à R. Lépine (4) la priorité de la conception du rôle du pancréas dans la destruction du glucose. L'idée émise n'était qu'une hypothèse, mais déjà assise, sur l'expérience qu'il faisait, en collaboration avec M. Barral : un pancréas broyé mis en contact avec une solution

alcalinisée de glucose faisait baisser le titre de celle-ci en sucre. Le fait nouvellement publié, que le diabète pancréatique ne tenait certainement pas au non écoulement du suc de cette glande dans l'intestin, lui faisait écrire que « le pancréas ne serait pas seulement une glande déversant son suc dans l'intestin, mais une sorte de glande vasculaire sanguine cédant à ses veines le ferment nécessaire au foie » ; l'histologiste Renaut ne trouvait aucune raison anatomique qui s'opposât à cette façon de voir.

La voie était ouverte à de nouvelles recherches. Mais les expériences de Von Mehring étaient encore discutées, par suite des difficultés de technique opératoire, ou incomplètes, ou trop vulnérantes.

En 1892, Minkowski (5) apporte une preuve formelle : le pancréas d'un chien est enlevé et il en transplante sous la peau une greffe : l'opération n'est pas suivie de diabète, mais celui-ci se déclanche presque immédiatement et évolue très vite après ablation de la greffe. Expérience cruciale, à laquelle Hédon (6) donne sa forme définitive, en montrant que la suppression du pédicule vasculaire de la greffe sous-cutanée, n'apporte aucun changement ; celle-ci ayant des connexions vasculaires suffisantes, pour lui permettre de se nourrir. C'était, du même coup, éliminer complètement le rôle du système nerveux que défendait Thirolloix (7) dans ce diabète expérimental.

Quant à la fonction endocrine du pancréas qu'avait posée Lépine, elle n'était pressentie que quelques années plus tard par V. Mehring (5), lorsqu'il explique le diabète consécutif à l'ablation du pancréas par la sup-

pression d'une fonction inconnue de cette glande. Il est vrai que les communications de Brown-Séquard sur les sécrétions internes ne datent que de 1889.

Dans un autre ordre d'idées, avec la notion de la fonction glycogénique du foie, révélée par Claude Bernard, s'était établie celle de la consommation du sucre dans la circulation qu'avait imposée Chauveau (8). C'était là une question du plus haut intérêt, puisqu'elle permettait de saisir l'utilisation du sucre dont on avait déjà su déterminer l'élaboration. Son importance n'échappa point à R. Lépine et ce fut son œuvre d'en préciser le mécanisme intime qu'il devait appeler « glycolyse » (9).

Cependant, l'existence de la sécrétion interne se confirmait peu à peu par les expériences de Hédon, Thiroloix sur les greffes, celles de Lépine et de Gley (10) sur la glycosurie qui suit la ligature des veines pancréatiques.

Puis, Laguesse, en 1893, (11) établit par l'embryologie que cette sécrétion interne se produisait dans les groupes de cellules particulières distingués par Langerhans. Les preuves physiologiques vinrent avec Gley, Ssobolew (12), puis Walter Schulze (13), qui parvinrent à obtenir la persistance d'îlots à peu près purs après isolement des lobes pancréatiques par ligature en masse de la glande chez le cobaye.

La fonction endocrine du pancréas établie, c'était la possibilité d'envisager, sous une forme nouvelle, les problèmes touchant au métabolisme du sucre en général, et ceux de la pathogénie du diabète pancréatique en particulier.

A partir de ce moment-là, les travaux s'organisent sous la double impulsion qu'impriment, d'une part, Mehring et Minkowski, et, d'autre part, R. Lépine. Ce dernier auteur s'y consacre tout entier, fouille dans les plus petits détails les phénomènes de la glycolyse et, tout naturellement, est amené à consacrer une grosse part de ses travaux à la détermination du rôle du pancréas dans la glycolyse et dans la glycémie.

C'est ainsi qu'en 1890, avec Barral, Lépine (14) démontre que l'hémoglycolyse *in vitro* est diminuée chez le chien dépancréaté ; en 1894 (15), il trouve que l'excitation du pancréas par faradisation de ses nerfs amène une augmentation de la glycolyse *in vitro* et dans les capillaires, ainsi qu'un degré plus ou moins prononcé d'hypoglycémie. Puis, il est conduit, logiquement, à essayer l'injection d'extraits pancréatiques : ceux-ci amènent une augmentation de la glycolyse générale. Dans ses travaux avec Martz, en 1897 (16), il confirmait les premières observations de Minkowski sur l'appauvrissement en glycogène du foie de l'animal dépancréaté. Il réalise de nombreuses circulations artificielles à travers cet organe et montre que la disparition du glycogène dans le tissu hépatique s'arrête, si le liquide de circulation traverse d'abord un pancréas.

Telle était l'œuvre si féconde de R. Lépine et de ses distingués collaborateurs, MM. Porteret, Barral, Métroz, Martz et Boulud.

Plus tard, de Meyer (17), dans une série de mémoires remarquables, achève de parfaire la mise au point de la physiologie du pancréas ; et après avoir démontré

par l'étude du mécanisme d'action du sérum antipan-
créatique qu'il venait de découvrir, la nécessité de la
sécrétion pancréatique interne, dans l'accomplisse-
ment de la fonction glycolytique ; il élucidait les rela-
tions qui devaient exister entre le rein et le pancréas :
la suppression de la sécrétion interne retentit sur les
reins, dont elle augmente la perméabilité au sucre
du sang. Il éclaircit enfin l'action du pancréas sur les
processus de polymérisation du glucose ; il favorise
la synthèse du glycogène hépatique et peut même
réveiller la puissance glycogénétique du foie diabé-
tique.

En un mot, le pancréas exerce une action totale sur
la régulation de l'équilibre glycémique.

Et, en 1910, de Meyer (18) fait sa profession de foi
en l'avenir de l'opothérapie ; il n'hésite pas à s'exprimer
ainsi : « Nous estimons que la thérapeutique
« rationnelle de cette affection ne pourra être recher-
« chée que dans l'opothérapie pancréatique... Si l'opo-
« thérapie n'a pas donné jusqu'ici les résultats qu'on
« était en droit d'en attendre, c'est qu'elle a été appli-
« quée de façon erronée. Toute une série de recherches
« concernant la spécificité des extraits, leur résistance
« aux ferments digestifs, les quantités devant être
« mises en œuvre, la nature des substances actives, la
« façon dont les glandes doivent être recueillies est
« à entreprendre avant que l'on puisse songer à appli-
« quer scientifiquement le traitement opothérapique
« aux malades. »

C'est, qu'en effet, l'opothérapie avait déjà été

employée, mais avec des résultats incertains ou même contradictoires par Montuori (19), Kleiner (20), Paulesco (21), Rennie et Fraser (22), Gilbert et Lassance (23).

Quelques succès, il est vrai, furent bien enregistrés par Zuelzer (24), Scott (25), plus tard par Ambard (26) et Chabanier (27), Achard, Ribot et Binet (28), tout récemment par Gardin (29), qui en fait une revue rapide.

Et pourtant, Gley (30), à la suite de nombreux travaux sur le diabète pancréatique du chien, avait exposé, dès 1905, les heureux résultats d'un extrait de pancréas réduit à sa partie endocrine, par injection destructive de suif fondu dans ses canaux excréteurs ; la quantité de sucre éliminée par le chien diabétique, mis en expérience, diminuait considérablement, en même temps que s'amendaient tous les caractères du diabète. Mais ces travaux ne furent révélés qu'en 1922, à l'ouverture du pli scellé déposé, en 1905, à la Société de Biologie.

Hedon (31), d'autre part, était parvenu, avec du sérum de sang veineux pancréatique, à réduire la glycosurie de chiens diabétiques.

On peut se demander pourquoi, contrairement aux autres essais opothérapiques, on avait ici aussi peu de succès. Ce serait-là refaire l'histoire des préparations des différents extraits utilisés, mais aussi ce serait constater que, sauf Gley, tous ou presque tous les auteurs expérimentent avec des extraits totaux contenant à la fois le principe actif attribué aux îlots de Langerhans et la sécrétion externe et aussi, en plus,

une masse de protéines, énorme si on la compare à l'infime quantité de produit actif.

Enfin, on connaissait mal les propriétés de l'hormone et, en particulier, sa fragilité si grande.

Pour aboutir à des résultats, il fallait, en effet, pouvoir opérer avec la sécrétion interne. Ce n'est que grâce à l'obtention d'un produit suffisamment épuré que la solution nette devait apparaître.

Où donc pouvait-on saisir cette hormone élaborée par le pancréas ?

De nombreux auteurs, raisonnant en physiologistes, la recherchent, avec beaucoup de logique, dans les humeurs issues du pancréas et réussissent à la mettre en évidence, grâce à quelques-unes de ses réactions physiologiques quasi spécifiques. C'est dans le sang de la veine pancréatique, avec Hedon, Alexander et Ehrmann (32) ; dans le perfusat de la glande, avec Clark (33) ; dans le sang de la grande circulation, avec Hedon, Carlson et Drennan (34) ; Murlin et Kramer (35) ; dans la lymphe thoracique où les travaux de Lépine, Falta (36) ; Biedl (37) et Offer, Kumagoi et Osato (38), en démontrent l'existence.

Mais il était aussi très rationnel de la retrouver dans le pancréas lui-même. On s'adressa d'abord à l'ingestion de glande cuite ou crue, puis aux extraits aqueux, alcooliques. De Meyer essaie même de se débarrasser de la sécrétion externe par un chauffage à 70° de son extrait aqueux.

Un autre procédé d'essence histologique, mais difficile à réaliser et qui retardait indéfiniment l'application thérapeutique, consistait à s'adresser à des glan-

des sélectionnées, où les éléments endocrines, les seuls intéressants à ce point de vue, auraient été isolés ; c'était la conséquence des brillants travaux de Laguesse. Diamare (39) apporte à l'appui de la théorie endocrine des îlots l'examen détaillé d'un grand nombre d'espèces dans les diverses classes de vertébrés et, avec Kaliabko (40), trouve la possibilité d'isoler les îlots de la substance acineuse chez des poissons téléostéens.

On pouvait aussi, comme l'avaient bien démontré Schulze, puis Ssobolew, faire dégénérer la glande acineuse par une ligature du canal de Wirsung, ou une ligature en masse du pancréas. Contestée par Allen et Scott, cette technique devait réussir entre les mains de Banting et de Best.

Enfin, on pouvait encore utiliser le pancréas de fœtus au moment où le tissu acineux ne fonctionne pas encore et, par suite, est peu développé, mais où l'élément endocrine est déjà bien formé, c'est-à-dire dans la deuxième moitié ou le dernier tiers de la gestation, ainsi que l'a fort bien indiqué Aron (41), et que les expériences de Carlson et Drennans, confirmées par Lafon, avaient déjà mis en évidence.

Tel était l'état de la question du diabète pancréatique, l'œuvre impérissable de Cl. Bernard était poursuivie et son domaine bien étendu.

CHAPITRE II

Origine de l'Insuline

Puis, brusquement, en 1922, les travaux de l'Ecole canadienne de l'Université de Toronto, entrepris par Macleod et ses élèves, Banting et Best, sont révélés au public médical européen (42) et nous apportent la solution si longtemps attendue.

Nous ne pouvons pas exposer dans le détail l'histoire de l'Insuline, ce serait sortir du cadre que nous nous sommes imposé et la question est actuellement trop connue par les nombreuses publications qui ont disséminé, dans tous les milieux, la nouvelle de la grande découverte pour que nous y insistions à nouveau, après les articles remarquables de MM. Bigwood (43), Laguesse, Benoît (44), Lyonnet (45), Delezenne et Hallion (46), Baudoin, Bierry (47), la conférence de M. Simonet (62), et combien d'autres encore, parmi les meilleurs, que nous omettons.

Nous nous contenterons de montrer comment la

brillante découverte de l'Insuline, par Banting et Best, est la conclusion logique des travaux antérieurs; et comment elle répond à la conception que l'on s'était faite de la sécrétion interne du pancréas par la mise en œuvre de ses propriétés physiologiques.

Mais, auparavant, pour éviter des redites inutiles, nous signalerons la série de réactions que l'on est arrivé à constituer comme test de l'activité antidiabétique et auxquels doit satisfaire le produit considéré comme sécrétion interne du pancréas.

In vitro, les tests sont si éloignés des conditions physiologiques, qu'ils sont de moins en moins utilisés et ne servent plus que d'introduction à l'étude des mêmes problèmes *in vivo*. Là, suivant la nature des cas à résoudre, on a pu s'adresser à l'organisme entier, ou à une fraction isolée du reste de l'individu par des artifices quelconques, ou même complètement séparée de lui. Dans cette dernière catégorie, on doit signaler la prépondérance des circulations artificielles, soit avec des liquides humoraux naturels, soit avec des liquides dont la composition chimique se rapprochait le plus possible de celle de l'humeur substituée.

Le diabète sucré peut être envisagé comme étant essentiellement constitué par une perversion du métabolisme des hydrates de carbone, tenant à une insuffisance glycolytique et certainement aussi glycopexique de l'organisme, mais aussi, dans certains cas, à un trouble fonctionnel spécial, signalé depuis longtemps : à savoir une perméabilité rénale au glucose plus grande que normalement.

Son état de gravité est donc fonction de l'impuis-

sance glycolytique de l'organisme ; celle-ci, selon une heureuse suggestion d'Ambard, a un témoin assez fidèle dans le degré de l'hyperglycémie : pour métaboliser son glucose, le diabétique est obligé de l'employer sous une forte tension.

Pour pallier aux troubles constitutifs du diabète, le principe antidiabétique devra donc manifester son activité dans les phénomènes de glycolyse, *in vitro* et surtout *in vivo*, dans le sang et dans les tissus ; dans les phénomènes de glycopexie jugés par l'accroissement des dépôts de glycogène, de graisses ; enfin, dans les manifestations générales qui caractérisent le trouble profond qu'apporte le diabète au jeu normal des fonctions vitales.

La meilleure utilisation du glucose par l'organisme pourra être démontrée par l'abaissement de l'hyperglycémie, par le relèvement du quotient respiratoire, enfin par la diminution et mieux la disparition de la glycosurie et de l'acétonurie et par l'amélioration du métabolisme basal.

Enfin, un dernier critérium, mais moins sûr par suite de la complexité de son mécanisme sera dans l'action qu'opposera la substance envisagée aux excitations diabétogènes de certains agents mécaniques, physiques ou chimiques, tels que piquûre du IV^e ventricule, asphyxies diverses, adrénaline.

C'est donc avec ces éléments que nous pourrions mieux suivre l'élaboration de l'Insuline et ses caractères : ils sont au physiologiste pour étudier la puissance antidiabétique, ce que la pierre de touche est à l'orfèvre pour évaluer le métal précieux,

C'est en novembre 1920 que Banting et Best (48), en lisant un article sur les relations des îlots de Langerhans avec le diabète, remarquent un passage : la ligature des conduits excréteurs du pancréas détermine la dégénérescence des acini. Cela leur suggéra l'idée d'obtenir ainsi un extrait actif des îlots, et Macleod, leur maître, les approuve.

Ils essaient des extraits aqueux, salés, de la glande plus ou moins réduite à ses îlots dix semaines après la ligature du Wirsung ; ils réussissent à abaisser nettement la glycémie et la glycosurie chez des chiens diabétiques. Mais cet extrait perdait vite ses propriétés s'il était mélangé au suc pancréatique intestinal.

Dans le même ordre d'idées, ils essaient de tirer l'hormone d'un organe riche en tissu endocrine et relativement pauvre en exocrine ; ils s'adressent au pancréas de l'embryon (49) qu'avaient signalés Laguesse et Ibrahim. Des extraits ainsi préparés, tantôt aqueux, tantôt alcooliques, leur donnent les mêmes résultats chez le chien dépancraté.

Mais les extraits alcooliques étaient beaucoup plus actifs parce que débarrassés des enzymes protéolytiques et d'une grande quantité de protéines. Entre temps, un de leur collaborateur, Collip (50), réussit à extraire du pancréas de bœuf adulte une substance aussi active : c'était la possibilité de l'obtenir en grande quantité et par suite la voie ouverte aux essais thérapeutiques.

Les expériences faites sur le lapin (51) montrent un abaissement très sensible de la glycémie ; après quelques heures, celle-ci peut aller jusqu'à n'être que

12 pour cent de la glycémie initiale, suivant la quantité de produit injecté. A ces glycémies-là, et même bien avant, autour de 0 gr. 42 pour mille, se déclarent des manifestations impressionnantes : après une période d'hyperexcitabilité, l'animal tombe dans un demi-coma, soulevé de temps en temps par quelques accès de convulsions cloniques, et quelquefois même la mort peut s'ensuivre. Mais des doses modérées permettent de régler l'hypoglycémie.

Les résultats toujours identiques leur confirment qu'ils sont dans la bonne voie. L'extrait ainsi préparé représente bien le principe actif des îlots de Langerhans. Macleod (52) apporte un surcroît de preuves en le tirant d'une autre source, de glandes endocrines à peu près pures, dans le pancréas de certains poissons osseux signalés autrefois par Laguesse ; il prépare des extraits avec les îlots de Langerhans d'une part et, d'autre part, avec le tissu acineux : ce dernier est absolument inactif, tandis que celui-là ne fait que confirmer les observations antérieures.

Les auteurs essaient alors les réactions de leur extrait qu'ils appellent Insuline, pour rappeler son origine langerhansienne, en se servant du nom déjà proposé par Schaeffer (53) et ils le jugent à la lumière des différents test. L'Insuline, ainsi préparée, possède au plus haut degré l'activité antidiabétique que l'on pouvait soupçonner à la sécrétion interne du pancréas.

Chez le lapin, il se montre l'antagoniste des moyens hyperglycémisants ordinaires : piqure de Cl. Bernard dans le plancher du IV^e ventricule (51), adrénaline, asphyxie mécanique ou par l'oxyde de carbone.

Le chien dépancréaté, dont le foie ne contient plus que des traces de glycogène est susceptible, sous l'influence combinée d'une injection d'Insuline et de saccharose de refaire la synthèse du glycogène et de l'accumuler ; son quotient respiratoire se relève très sensiblement.

Tandis que le foie des animaux pancréatectomisés est aussi surchargé en graisse que pauvre en glycogène, au contraire, le même organe chez ceux qui ont été traités à l'Insuline se montre exempt de cette surcharge.

Dans les muscles, si l'on en juge par les expériences faites sur le cœur du chien, tandis que le cœur du diabétique est beaucoup plus riche en glycogène que le cœur normal, l'administration d'Insuline ramène à son taux normal le taux de glycogène.

Quant à la glycolyse hématique *in vitro*, les auteurs canadiens trouvent que leur extrait d'activité anti-diabétique, éprouvé par ailleurs, n'augmente pas l'activité glycolytique, tandis que Iscovesco constate au contraire que dans le sang humain, l'Insuline l'active très sensiblement, et cette action ne se manifesterait intense que sur le sucre normal et non sur le sucre ajouté.

Enfin, la glycosurie, l'acétonurie, l'hyperglycémie du chien diabétique s'amendaient beaucoup.

Ces résultats acquis, en tenant compte de la prudence qu'imposaient les accidents de l'hypoglycémie chez le lapin, les auteurs tentent, dès 1922, des essais thérapeutiques (49-50).

Constamment, ils observent un abaissement de la

glycémie souvent ramenée à la normale, avec disparition du sucre et des corps cétoniques dans l'urine, tandis que le quotient respiratoire augmente nettement et qu'on observe, dans quelques cas, une amélioration notable de l'état général.

La spécificité d'action de l'Insuline est ainsi nettement prouvée et la confirmation indirecte en est donnée par le fait que, dans les accidents convulsifs qui succèdent à l'hypoglycémie, accidents très graves qui peuvent évoluer jusqu'à la mort, seul, de tous les sucres, le glucose peut les combattre avec succès. Le levulose, le galactose, le maltose n'ont qu'un effet très faible, et les autres, arabinose, xylose, lactose, saccharose, complètement nul.

En résumant, on peut dire que l'Insuline stabilise le glycogène devenu trop labile, rend à nouveau l'organisme capable de brûler le glucose, ou confère à celui-ci des propriétés susceptibles de le rendre utilisable et par contre-coup redresse le métabolisme des corps gras, celui-ci conditionnant l'acétonurie et le métabolisme basal.

Dès la divulgation, en Europe, des brillants résultats, depuis quelque temps obtenus si nombreux en Amérique, ce fut une éclosion d'observations cliniques qui tendent actuellement à réglementer l'utilisation de l'Insuline en thérapeutique, en limitant son application et conditionnant son administration, ainsi que le reflète bien le dernier Congrès de médecine de Bordeaux, en 1923 (54), pour les travaux français,

CHAPITRE III

Préparation et Titrage de l'Insuline

Mais nous devons à présent entrer dans le détail de la préparation de l'Insuline et, en particulier, décrire la technique d'obtention du produit qui servit à nos expériences.

Il résultait des premières expériences des auteurs canadiens que le principe actif retiré du pancréas était soluble dans l'alcool, mais détruit par les ferments protéolytiques ; d'autre part, l'extrait total de pancréas contenait des substances antagonistes. Il en découlait naturellement que l'opothérapie ne pouvait utiliser les voies digestives ; elle ne pouvait donc être administrée que par la voie sous-cutanée ou intra-veineuse. Par suite, le produit utilisable ne devait contenir que le moins possible de protéines toujours suspects de méfaits. Enfin, l'hormone pancréatique

est très fragile et résiste mal à une température élevée, surtout en milieu alcalin.

Donc, dans la préparation de l'extrait alcoolique, l'alcool employé doit avoir un titre tel qu'il solubilise le principe actif, précipite le plus possible de protéines et fixant la protrypsine, l'empêche de se transformer en ferment actif ; mais il faut savoir aussi qu'un alcool plus fort que 92° précipite l'Insuline.

C'est d'après ces éléments qu'ont été élaborées les différentes techniques de préparation toutes plus ou moins dérivées de la méthode originale.

On peut, du reste, avec Fabre (55), faire plusieurs groupes de ces procédés.

1° Techniques utilisant l'alcool comme agent de stabilisation et de désalbumination.

Collip (56), Dudley (57).

Le pancréas de bœuf, très frais et finement haché, est reçu dans un poids égal d'alcool à 95°, refroidi à —3°, puis passé, exprimé, abandonné à la température ambiante et filtré. Ce liquide, additionné à nouveau d'alcool à 95°, dans la proportion d'un volume et demi, est filtré après abandon dans un endroit froid. On chasse l'alcool et concentre le filtrat dans le vide à froid. On extrait les matières grasses du résidu par l'éther de pétrole. Enfin, par addition d'alcool absolu au liquide aqueux restant, on précipite un produit d'une grande activité physiologique, mais dont le rendement est très faible : 1 gramme par kilogramme de pancréas.

2° *Techniques utilisant l'alcool pour détruire
la sécrétion externe*

MACKENZIE (58), CHABANNIER (59)

C'est le procédé que nous avons employé et que nous décrirons avec quelques détails.

Le pancréas de bœuf ou de cheval, prélevé sur l'animal, à l'abattoir, est, sur les lieux, immédiatement débarrassé des tissus étrangers, capsule, graisse, ganglions et transporté au laboratoire dans la glace.

Puis, tandis que l'on porte deux parties d'alcool à 95° à une température de 60°, au bain-marie, on hache rapidement le pancréas et on le plonge dans l'alcool chaud, acidifié au préalable par HCl, de telle façon qu'après contact, l'acidité soit de 1,1 à 1,2 pour mille.

On maintient une heure, à 60° degré, la macération.

On passe à l'étamine, exprime, refroidit à la glacière et filtre. Le liquide ambré est distillé dans le vide et à basse température. Pour accélérer une opération très longue, si on opère à une température de 10 à 12°, nous faisons la concentration dans des cloches à vide, munies dans le bas, d'un cristalliseur d'acide sulfurique à 66°, surmonté, à l'étage supérieur, de soude en bâtons, pour absorber les vapeurs acides et enfin, à la partie supérieure, un vaste cristalliseur où est placé le liquide à distiller.

Nous avons pu maintenir une pression de 5 mm. de Hg dans la cloche et, en quatre jours, la liqueur était réduite au 1/5 de son volume primitif.

Le liquide visqueux et gras ainsi obtenu est ramené à l'acidité de 1,2 pour mille, abandonné au repos et filtré.

Le liquide clair obtenu est stérilisé par filtration à la bougie et, au moment de son emploi, est exactement neutralisé, si on le destine à la thérapeutique.

Cette technique donne un produit très actif et sans manipulations trop compliquées, mais il contient encore beaucoup de matières protéiques.

*3° Techniques utilisant la désalbumination à l'alcool
et la purification de l'Insuline
par précipitation au point isoélectrique.*

Allen (60), Toronto, Doisy (61), Fisher, Lilly.

La liqueur résultant de la macération du pancréas de bœuf dans P. E. d'alcool à 80°, acidifié à 3 pour mille, est, après repos et filtration, concentrée au 1/15, dans le vide, puis additionnée de sulfate d'ammoniaque à demi-saturation. Il se forme un précipité qu'on redissout dans l'alcool à 85°, en quantité suffisante pour que le liquide résultant ait un titre voisin de 75°. On reprécipite l'Insuline par l'éther. On la sèche dans le vide. On l'épuise à différentes reprises par de l'eau acidulée, contenant 3 pour mille de crésol et dont on ramène, après dissolution le P_H à 4,7, ce qui précipite à nouveau l'Insuline. Enfin, on la redissout dans de l'eau acidulée à P_H : 2,5, puis filtre à la bougie.

4° *Techniques utilisant l'entraînement de l'Insuline dans un précipité approprié.*

Dudley précipite l'Insuline de la macération alcoolique par l'acide phospho-tungstique ; il l'en déplace par l'acide sulfurique en milieu éthéré et il la reprécipite à nouveau par l'alcool fort.

On a pu aussi utiliser sa précipitation par l'acide picrique, ou son isolement par l'acide benzoïque qui l'adsorbe, (Mahoney et Finlay.)

Suivant le degré de purification, on peut avoir des produits d'aspect tout différent ; soit en poudre plus ou moins blanche, soit sous forme de liquide coloré, contenant encore une certaine quantité d'albumine.

Mais aussi loin que l'on ait pu pousser la purification, on n'a jamais obtenu de produit pur et, au point de vue chimique, il est encore impossible de lui attribuer ni réactions propres, ni formule de constitution, ni même une place dans la nature des corps. Dans ses précipitations, elle suit les albumoses, peut-être est-ce seulement parce qu'elle leur adhère physiquement.

Est-ce une hormone comparable à celles qui sont le mieux connues ? On peut en douter, car le temps perdu qui s'écoule entre le moment de l'injection et l'apparition des effets, l'évolution de ceux-ci, sa fragilité, vis-à-vis des ferments protéolytiques de l'alcalinité du milieu, évoquent plutôt l'idée d'une diastase dont le support serait une matière protéique ; c'est ainsi que tendraient à le montrer ses réactions physi-

ques de précipitation, son insolubilité dans les solvants des graisses, la dialyse...

Quoi qu'il en soit, la démonstration physiologique du pouvoir antidiabétique de l'Insuline a été faite sur une assez vaste échelle et par des procédés suffisamment variés pour qu'on ne tarde pas davantage à la faire entrer dans la thérapeutique du diabète, non comme curatif, mais au moins comme palliatif.

Titrage de l'Insuline

L'observation des accidents de l'hypoglycémie chez les animaux imposait un titrage physiologique destiné aussi à étalonner l'activité des extraits d'origines diverses.

Le contrôle chimique était illusoire, qui cherchait à doser la puissance de l'Insuline à travers l'accroissement de la vitesse de la fermentation alcoolique, où l'activité glycolytique du suc musculaire, ou du sang.

Aussi, d'emblée, s'adressa-t-on à la propriété physiologique la plus constante et la plus facile à mettre en évidence, à savoir la baisse de la glycémie chez l'animal normal ; lapins, chiens, souris, cobayes furent essayés tour à tour.

Quelques auteurs, en particulier Eadie et Macleod, proposèrent aussi une évaluation d'après la quantité d'adrénaline dont on parvenait à neutraliser l'effet hyperglycémiant, ou encore d'après la quantité de

sucré dont on obtenait la disparition dans le sang d'un animal rendu hyperglycémique par injection de glucose. Dans le même ordre d'idées, Allen utilise le chien dépancréaté et recherche la quantité de glucose qui permet de métaboliser une quantité déterminée d'Insuline.

Mais la méthode la plus employée est celle des auteurs canadiens ; ceux-ci, constatant que lorsque la glycémie tombe au-dessous de 0 gr. 45 pour mille, on assistait généralement aux troubles de l'hypoglycémie, considérèrent cette glycémie comme un étalon et l'unité physiologique fut la quantité d'Insuline qui, par injection hypodermique, abaisse la glycémie d'un lapin de 2 kilos, à jeun depuis 24 heures, à 0 gr. 45 pour mille. En réalité, pris au sens absolu, c'était assez difficile à réaliser et Chabannier utilise ce test légèrement modifié, mais plus rationnel, en choisissant comme unité la quantité d'Insuline qui, injectée à un lapin de 2 kil. 500, à jeun depuis 16 heures, en fait baisser la glycémie d'environ 60 pour cent.

C'est un titrage évidemment relatif et il aurait l'inconvénient de manquer de fidélité par suite des réactions différentes des animaux en expérience, aussi doit-il être pratiqué sur un grand nombre d'animaux, ainsi que le recommande Delezenne.

Le chien, proposé par Bierry, ou le cobaye présentent les mêmes inconvénients.

Krogh propose l'unité souris, reposant sur la proportion de souris prenant des convulsions à la suite d'injections d'Insuline.

Enfin, Blum, Banting ont aussi montré l'absence

de parallélisme entre les effets de l'Insuline sur le lapin et sur le sujet diabétique, cas évidemment beaucoup plus complexe. Faut-il, dès lors, renoncer à cet étalonnage et s'en remettre, selon Blum, à juger de l'activité d'un produit d'après l'action qu'il exerce sur un sujet diabétique dont on connaît l'intensité des troubles du métabolisme ? En définitive, c'est celui-ci qui règlera la quantité d'Insuline à lui administrer, mais cependant, pour étalonner thérapeutiquement l'ordre de troubles, il est bon d'adopter une unité définie une fois pour toutes ; peut-être, ainsi que le proposent Penau et Simonnet (63), devra-t-on employer une méthode mixte, qui utiliserait concurremment le lapin et le chien dépancréatés.

Quoi qu'il en soit, il semble nécessaire, ainsi que le demandait Macléod, de standardiser la préparation de l'Insuline et d'en définir une unité physiologique facile à déterminer.

CHAPITRE IV

Travaux Personnels

Le rapide historique que nous venons de faire semblerait imposer l'origine uniquement physiologique des connaissances actuelles sur le métabolisme des hydrates de carbone dans le diabète sucré. C'est que, pour ne pas trop compliquer notre exposé, qui ne doit servir que d'introduction à notre contribution personnelle, pour la situer dans le maquis des problèmes que soulève la pathogénie du diabète, nous avons omis systématiquement de traiter le côté vraiment chimique de la question. Faut-il avouer que c'est aussi parce qu'il est difficile de se constituer une idée nette sur la matière ? Si, actuellement, les relations du glucose avec les corps protéiques et les graisses d'une part; avec les hydrates de carbone d'autre part, semblent tirées au clair, son métabolisme, les étapes de sa dés-

intégration sont quelque peu confus et souvent même encore à peine libérés de l'atmosphère d'hypothèse qui les enveloppe.

Mais il semble, actuellement, que pourvu de cet agent remarquable qu'est l'Insuline, encore inconnu dans son essence, il est vrai, il sera infiniment plus facile de suivre la cascade de désintégration qui fait du glucose le corps le plus dynamogène de l'organisme.

Et d'abord, au problème de l'hypoglycémie consécutive à l'administration d'Insuline, quelles solutions peut-on proposer ?

Actuellement, il n'y a aucune preuve nette que chez l'animal normal elle puisse s'expliquer par une consommation du sucre.

En effet, il ressort des expériences de Dixon, Eadie et Pember (64), faites sur le lapin et le chien, que, tandis que la glycémie allait en s'abaissant, le quotient respiratoire se modifiait peu, si ce n'est à la phase convulsive de l'hypoglycémie; ce qui explique d'ailleurs facilement le travail musculaire effectué à ce moment-là.

De même, Dudley, Laidlaw, Trevan et Boock, sur la souris et le lapin; sur l'homme, après injection d'Insuline au moment des repas, Kellaway et Hugues ont trouvé des résultats analogues (64).

De même, la disparition du sucre ne semble pas se faire dans le sang : Nos expériences concordent avec celles de Eadie, Macleod et Noble (65), pour constater que la glycolyse dans le sang n'est pas accélérée par addition d'Insuline *in vitro*, pas plus que le sang prélevé à différents intervalles, après injection d'Insu-

line, ne se détruit pas plus vite ensuite, *in vitro*, qu'un sang témoin.

Par contre, à l'inverse des conclusions des mêmes auteurs, qui ne constatent aucune modification apportée à la glycolyse par l'addition de tissu musculaire à un mélange de sang et d'Insuline, nous pensons apporter ici la preuve que, sous l'influence de l'Insuline, le muscle est devenu capable de capter le glucose d'une façon assez lâche, qui explique sa facile libération. Ce serait peut-être là l'explication de l'hypoglycémie.

La question de la consommation ou de la fixation du glucose par le muscle a été envisagée à différentes reprises, mais il nous semble que les techniques utilisées, tant au point de vue physiologique que chimique ont été défectueuses ; nous les exposerons dans une courte revue critique.

Nous pensons apporter quelques éclaircissements à ce problème, grâce à l'Insuline, que l'on peut identifier à la sécrétion interne du pancréas, quant à ses propriétés physiologiques, et aussi par notre mode opératoire, excessivement simple et contrôlé à chaque instant par un témoin.

Il faut remonter à Chauveau pour trouver la première relation de la consommation du sucre, ou de sa disparition sous une forme encore non précisée, dans le circuit du sang à travers l'organisme. En effet, il est le premier à constater que le glucose est toujours plus abondant dans l'artère que dans les veines collatérales.

Quelques années plus tard, Cl. Bernard fait les

mêmes constatations, mais ses chiffres dénotent des écarts beaucoup trop grands entre le sang artériel et veineux.

En 1877, Von Mehring et Pavy (66), à peu près à la même époque, trouvent des différences en glucose assez faibles par les mêmes modes d'appréciation.

En 1886, Chauveau et Kaufmann (67), par un travail très important, portant sur plus de 200 expériences, fixent la consommation du sucre. Ils démontrent que le sucre du sang se détruit d'une manière incessante dans les capillaires de la circulation générale, en se basant sur ce résultat constant qu'il existe réellement moins de glucose dans le sang qui sort des organes que dans celui qui y arrive et en tirent des déductions sur la combustion organique, après avoir complété leurs expériences par des dosages de CO_2 produit et d'O consommé. Comme résultat de leurs expériences, ils ont trouvé, d'une part, que la production de CO_2 dans le muscle est environ cinq fois plus forte que dans les glandes ; d'autre part, que la transformation de sang artériel en sang veineux s'accompagne dans celle-ci d'une destruction de glucose, inférieure de plus de cinq fois et demie à celle qui a lieu dans le muscle.

Lépine et Barral (68) reprennent ces expériences sur un certain nombre de chiens et trouvent comme moyenne d'un certain nombre d'expériences correctes une glycolyse égale au $\frac{1}{8}$ environ de la glycémie artérielle initiale. A la suite des comparaisons qu'ils font entre la glycolyse dans les capillaires ainsi déterminée et la glycolyse *in vitro* du même sang artériel,

du reste beaucoup plus faible, ils constatent qu'il n'y a pas de parallélisme entre les deux phénomènes ; la glycolyse peut être très forte dans les capillaires et très faible dans le sang artériel recueilli au même moment, ou inversement.

Lépine essaie aussi d'appliquer la méthode des circulations artificielles (69), imaginée par Heger, de Bruxelles, et entre autres expériences, il irrigue comparativement les deux membres postérieurs d'un chien au moyen de l'appareil de Jacoby, l'un avec du sang normal et l'autre avec du sang de chien dépancréaté. Après une heure de circulation, ce dernier sang, quoique plus sucré, avait perdu moins de sucre par rapport au sucre initial. Le sucre était dosé au commencement et à la fin de l'irrigation ; le sang circulait à travers les complexités très ingénieuses de l'appareil qu'ont très bien décrit, dans leurs thèses, MM. Barral et Martz (16).

Plus récemment, Hugh Mc Guigan (70) fait des circulations artificielles dans les muscles postérieurs de chiens, chat, lapin, et il démontre que le glucose est consommé en notable quantité, surtout quand on faradise le membre.

Knowlton et Starling (71) font passer du sang normal dans le cœur de petits chiens, sous une pression de 8 ct. de Hg et constatent que le myocarde consomme 4 mgr. de glucose par heure. Avec le cœur d'un chien dépancréaté depuis six jours, la consommation a paru nulle. En réalité, l'expérience est entachée d'une grave erreur qui tient à la présence du glycogène dans

le cœur, ainsi que l'a reconnu Starling lui-même, puis Cruickbang et Patterson (72).

Rona et Wilenko (73) refont la même expérience à travers le cœur de lapin, qui renferme moins de glyco-gène, en utilisant, comme liquide de circulation, du liquide de Tyrode sucré, et à une vitesse beaucoup moins grande. La consommation du sucre a varié de 3 mgr. 4 à 1 mgr. 9 par gramme de myocarde et par heure. Avec le liquide de Locke, bien moins alcalin, la consommation du sucre est moindre.

Admond Clark (74) fait aussi des circulations à travers le cœur de chien isolé et il constate que la consommation de sucre est augmentée si le sang a passé dans le pancréas avant de pénétrer dans le cœur.

Hepburn et Latchford (75) ont aussi montré que l'Insuline augmente considérablement de 0 mgr. 8 à plus de 3 mgr. la consommation de sucre par gramme et par heure dans le cœur de lapin isolé, irrigué au liquide de Locke, glucosé et à oxygénation renouvelée.

Ce sont là les expériences les plus concluantes que nous ayons pu relever, car nous ne parlerons pas de celles de Gigon et Massini (76), faites avec de la pulpe de muscle congelé, portée au contact d'une solution de glucose contenant une assez forte proportion de chlorure de potassium et dont les résultats sont reconnus après 24 heures.

Que pouvait-on conclure de ce faisceau d'expériences ?

Les observations portant sur des pulpes musculaires ou même sur des organes isolés de l'organisme, sont tellement éloignées de la réalité physiologique qu'elles

demandent au moins à être revisées. Quant à l'action de la sécrétion interne du pancréas, peu d'auteurs l'ont étudiée. C'est d'abord Lépine, en 1890, dont le schéma d'expérience est très beau ; mais nous verrons que le contrôle, uniquement au bout d'une heure, manque de précision et que l'action du pancréas ne semble pas avoir été suffisamment mise en évidence.

L'expérience de Clark démontre d'une très jolie façon l'action du pancréas sur la consommation du sucre ; mais le fait qu'il opère sur un organe isolé et, d'autre part, la présence de glycogène dans le cœur, qui le met sous le coup des critiques adressées aux conclusions de Knowlton et Starling, enlèvent beaucoup de leur valeur à ses expériences.

Techniques

Aussi, nous inspirant des circulations artificielles de Lépine et de de Meyer (77), après avoir relu les mises au point de Demoor (78), avons-nous essayé de reprendre ces observations de consommation ou de fixation du glucose par le muscle, à la lumière de l'Insuline. Nous avons toujours eu en vue la nécessité d'appuyer nos expériences sur des bases indiscutables que contrôlaient d'autres observations, témoins aussi identiques que possible.

Pour ce faire, nous avons pensé opérer sur des chiens sains et neufs, puis sur des chiens dépancréatés,

à des périodes plus ou moins éloignées de l'opération diabétogène.

L'animal est vivant au moins une bonne partie de l'expérience ; nous assurons son insensibilité par une saignée à la carotide, suffisante pour l'anesthésier et qui correspond à peu près à un ralentissement de l'écoulement ou à des signes d'épuisement.

Le sang recueilli dans le citrate de soude est mélangé au liquide de Locke (chlorure de sodium 9 gr. ; chlorure de calcium 0,20 ; bicarbonate de soude 0,20 ; chlorure de potassium 0,10 et eau 1000), puis additionné de glucose.

En effet, les conclusions du travail de Vandeput (79), sur la glycolyse, nous incitaient à enrichir en glucose le liquide de circulation, ce qui constituait un excitant du ferment glycolytique.

Le liquide d'irrigation ainsi composé était mis dans deux flacons, chacun devant servir à l'irrigation d'un membre.

Pour nous rendre compte de l'action de l'Insuline sur les mutations du glucose dans le muscle, nous nous sommes proposé d'irriguer les deux membres postérieurs d'un chien vivant, l'un avec un liquide de circulation glucosé et contenant de l'Insuline, l'autre avec le même liquide de circulation sans Insuline.

L'Insuline qui a servi à nos expériences est préparée selon la technique de Chabannier, plus haut décrite et dont le titrage physiologique fait sur le lapin nous donnait toutes les garanties d'activité antidiabétique que résumait le tableau suivant :

Lapin de 3 kilos, à jeun depuis 17 heures environ.

On lui fait une prise de sang dans la veine marginale de l'oreille, à 11 h. 10 et, immédiatement après, une injection sous-cutanée de 1 cc. de notre Insuline ; puis, d'heure en heure à peu près, on lui prélève du sang à la marginale. Nous avons eu les résultats suivants :

Glycémie avant injection, à 11 h. 10.....	1 gr. 30
— 40 minutes après injection, à 12 heures..	1 gr. 19
— 2 heures après injection, à 13 h. 10....	0 gr. 61
— 3 h. 10 après injection, à 14 h. 20.....	0 gr. 63
— 4 h. 25 après injection, à 15 h. 35.....	0 gr. 79

Toutefois les Insulines non complètement épurées contiennent encore des quantités de protéine, de sels et d'éléments divers mal connus dont la superposition au principe actif auraient pu en masquer le sens exact d'action ; c'est, on le sait bien, le cas de la concentration ionique du liquide d'irrigation : le PH.

Aussi pour que le membre témoin se trouve dans des conditions aussi voisines que possible du membre expérimenté, nous sommes-nous servi de ce fait que la stérilisation à l'autoclave à 135° pendant 40 minutes annihilait absolument le principe hypoglycémiant. La tyndalisation à 60°, 2 heures par jour pendant trois jours produit les mêmes résultats, éprouvés sur le lapin.

Et nous avons toujours ajouté au liquide d'irrigation, identique au début pour les deux membres, une quantité d'Insuline inactivée, pour le membre témoin, égale à celle d'Insuline qui était additionnée au liquide d'irrigation du membre en expérience.

L'irrigation avait lieu pour chaque membre selon le mode suivant : une canule était placée dans l'artère fémorale au pli inguinal et lançait dans la patte le liquide d'irrigation. Une canule dans la veine fémorale au même niveau permettait de recueillir le sang veineux.

Le pouvoir fixateur (?) du muscle en glucose était analysé par des dosages fréquemment répétés du glucose artériel et du glucose veineux prélevés au même instant dans les deux membres irrigués.

La circulation artificielle commencée avec un litre de liquide qui était sans cesse en circulation s'enrichissait forcément du sang dont était imprégné le membre et dont la richesse différente en glucose eût pu fausser nos conclusions si le même fait ne se produisait pas identique dans le membre témoin.

Afin de pouvoir faire des prises de sang fréquentes et utiliser une pression artérielle constante se rapprochant autant que possible des conditions physiologiques nous avons construit un appareil très simple. Un siphon ordinaire plongeant dans le flacon élevé à une certaine hauteur au-dessus du membre à irriguer (1 m. 25 = 9 ct, 20 Hg) permettait un écoulement automatique et sous pression constante. Un long tube en caoutchouc unissait la branche extérieure à la canule artérielle avec interposition d'un tube en Y tout près de la canule. Une pince à vis située au-dessus du tube en Y permettait de régler le débit, tandis qu'un petit tube de caoutchouc obturé par une pince à vis et solidement fixé à la branche libre du tube permettait d'y adapter une pipette jaugée faisant la prise de

sang d'un volume nécessaire au dosage : 1 cc en l'es-pèce. Après avoir purgé, du liquide qui avait pu y séjourner, la branche libre, la simple pression faisait monter dans la pipette la quantité de sang voulue.

La canule veineuse était prolongée par un tube de caoutchouc permettant de recueillir le liquide de circulation et d'en prélever comme précédemment ce qui était nécessaire au dosage.

Deux appareils absolument identiques ont servi pour les deux membres. Les prises de sang sont faites avec la même pipette et les dosages de sucre effectués selon la méthode volumétrique de Fontès et Thivolle (80) dérivée de celle de Folin et Wu et permettant de faire des dosages en série.

Nous avons toujours veillé à ce que les sucres artériel et veineux du même membre, et prélevés au même moment fussent centrifugés et manipulés exactement dans les mêmes conditions afin d'avoir des résultats au moins comparables s'ils n'étaient absolus.

Nous insistons aussi sur la température à laquelle étaient faites nos expériences : le muscle était recouvert de ses téguments ; l'animal, le liquide de circulation étant à la température du laboratoire (21 à 22°). Car nous savons que de Meyer s'est lui-même longuement appesanti sur l'influence de la température sur la filtration rénale en particulier ; et d'autre part on connaît fort bien l'influence d'un bain à des températures différentes sur la glycémie.

OBSERVATION I

CHIEN NORMAL

Chien robuste moyen.

On prélève à la carotide 400 cc. de sang qu'on recueille dans 200 cc. de citrate de soude à 10 % et réunit à du liquide de Locke, sucré à 1,5 0/00, en quantité suffisante pour faire un volume de 2 litres.

On installe les canules fémorales sur les deux membres postérieurs ; les liquides d'irrigation sont ainsi constitués : 900 cc. du mélange précédent sont placés dans deux flacons ; l'un reçoit en plus 15 cc. d'Insuline, l'autre 15 cc. d'Insuline inactivée par longue stérilisation.

La circulation a été établie sur un rythme lent permettant un contact assez long.

L'animal a vécu tout le temps qu'a duré l'expérience.

Le sang devenu veineux par circulation à travers la patte, après agitation à l'air, était reversé dans le flacon artériel, un mouvement violent d'agitation assurait l'homogénéité du contenu du réservoir supérieur.

La prise de sang artériel n'était faite qu'après quelques minutes, lorsque nous jugions que le sang veineux que l'on pouvait recueillir correspondait bien au liquide artériel encore contenu dans le réservoir.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Membre Insulé		Membre Témoin	
A l'origine de la circulation	{ Artère 1 gr. 20 Veine. 1 gr. 20	Origine	{ Artère 1 gr. 25 Veine. 1 gr. 50
Après 0 h 35 de circulation	{ Artère 1 gr. 50 Veine. 1 gr. 30	Après 0 h 30	{ Veine. 1 gr. 50
1 h 20 —	{ Veine. 0 gr. 50	Après 2 h	{ Artère 0 gr. 80 Veine. 1 gr. 55
2 h —	{ Artère 0 gr. 30 Veine. 1 gr. 10		

On peut donc conclure que tandis que le liquide sucré sans Insuline entraîne chaque fois du sucre qu'il emprunte au muscle, l'Insuline au contraire manifeste sa présence par une captation de sucre dans les tissus, le sang veineux étant moins riche que le sang artériel.

Cette observation nous montre aussi que l'action de l'Insuline est passagère, puisqu'après 2 heures, toute puissance fixatrice a disparu; à ce moment-là, le liquide de circulation s'enrichit en sucre, de même que dans le membre témoin.

OBSERVATION II

Dans cette expérience, nous nous sommes proposé de nous rapprocher davantage des conditions physiologiques en utilisant un liquide de circulation encore plus riche en sang.

Le chien de l'expérience précédente avait été saigné à blanc après l'irrigation et son sang citraté et conservé à la glacière, a été joint au liquide d'irrigation de cette expérience-ci.

Chien jeune, neuf, de 11 kilos.

Nous retirons 500 cc. de sang par la carotide ; saignée un peu trop abondante, car l'animal s'essoufle rapidement.

Ce sang citrate et joint au précédent est dilué avec du sérum physiologique à 7 gr. 50 NaCl 0/00, P. E. et additionné de 5 gr. de sucre.

Un litre de ce liquide reçoit 15 cc. d'Insuline.

L'installation des canules artérielles et veineuses n'a pu être faite que dans un membre. Celui-ci est irrigué à l'Insuline.

La circulation est rapide à la vitesse de 3 litres 600 à l'heure environ.

Les dosages répétés nous ont donné les résultats suivants :

Membre Insulé

Après 0 h 30 de circulation		{ Artère 2 gr. 26 de glucose‰ Veine. 2 gr. 05	
0 h 35	—	{ Artère 2 gr. 14 Veine. 1 gr. 80	
0 h 45	—	{ Artère 2 gr. 05 Veine. 1 gr. 80	
1 h 15	—	{ Artère 1 gr. 97 Veine. 1 gr. 84	
2 h	—	{ Artère 1 gr. 55 Veine. 1 gr. 72	

Cette observation montre d'une façon très saisissante l'absorption du glucose par le muscle. On peut même constater la diminution du pouvoir de l'Insuline, puis son action épuisée complètement, le muscle libère du glucose.

Nous signalons aussi un phénomène sur lequel nous reviendrons plus tard, c'est l'appauvrissement systématique du sang artériel en sucre si l'on regarde les différentes prises de ce sang, ainsi qu'il était à prévoir. Mais cette perte globale au bout de quelques minutes est bien inférieure à celle qu'il a subie dans son trajet musculaire. C'est là un fait constant que ne peut expliquer la dilution du liquide initial par le sang moins sucré.

Pour faire la part de la disparition de sucre qui revient à la glycolyse sanguine, nous avons voulu connaître quelle serait dans ces conditions l'action de l'Insuline *in vitro*.

Nous avons gardé un certain volume du liquide d'irrigation initial dont 50 cc. étaient placés dans deux flacons : l'un recevait 5 cc. du sérum physiologique de dilution, l'autre 5 cc. d'Insuline ; ces deux flacons ont été maintenus ensemble à une température oscillant entre 38° et 42°.

Des dosages effectués à différents moments, nous ont donné les chiffres suivants de glucose par litre :

	Après 30 minutes	4 h. 15	7 h.	Glycolyse
Sang dilué.....	1 gr. 89	1 gr. 76	1 gr. 63	0 gr. 26
Sang + Insuline	1 gr. 76	1 gr. 63	1 gr. 55	0 gr. 21

Il semble donc que l'Insuline n'intervienne pas sensiblement sur la glycolyse *in vitro* ; en cela d'ailleurs nous sommes absolument d'accord avec les expériences américaines.

Il en résulte encore que la disparition du sucre est bien imputable au muscle.

Comparée à l'observation I la disparition du sucre est ici bien supérieure ; faut-il y voir l'action d'un liquide de circulation où le sang est moins dilué ?

OBSERVATION III

CHIEN DIABÉTIQUE

Jeune chien de 10 kilos.

Le pancréas est enlevé complètement. L'animal très agité a réussi à enlever ses points de suture et le lendemain un long morceau d'intestin pend hors de l'abdomen. Un sondage de sa vessie nous confirme qu'il est glycosurique. On le met en expérience 27 heures après l'ablation.

On ne retire par la carotide qu'une centaine de centimètres cubes de sang très visqueux. L'animal s'épuise très vite.

Le liquide d'irrigation est constitué par le sang citraté dilué dans 1400 cc. de liquide de Locke sucré à 2,5 0/00.

On met 20 cc. d'Insuline dans l'un des flacons et 20 cc. d'Insuline stérilisée 20 minutes à 120° (peut-être pas suffisamment inactivée) dans l'autre flacon.

L'irrigation est faite selon la technique plus haut décrite. L'animal très haletant meurt après 45 minutes de circulation.

Les prélèvements de sang nous ont donné les résultats suivants comme glycémie :

Membre Insulé		Membre Témoin	
Après 0 h 15 de circulation	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 25} \\ \text{Veine. 2 gr. 25} \end{array} \right.$	Après 0 h 5	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 1 gr. 95} \\ \text{Veine. 2 gr. 50} \end{array} \right.$
0 h 40 —	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 20} \\ \text{Veine. 2 gr. 20} \end{array} \right.$	0 h 20	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 1 gr. 95} \\ \text{Veine. 2 gr. 15} \end{array} \right.$
1 h 20 —	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 05} \\ \text{Veine. 2 gr.} \end{array} \right.$	0 h 45	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 50} \\ \text{Veine. 2 gr. 50} \end{array} \right.$
1 h 50 —	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 15} \\ \text{Veine. 2 gr. 40} \end{array} \right.$	1 h 10	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 35} \\ \text{Veine. 2 gr. 40} \end{array} \right.$
2 h 15 —	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 30} \\ \text{Veine. 2 gr. 55} \end{array} \right.$	1 h 40	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 10} \\ \text{Veine. 2 gr. 45} \end{array} \right.$
		2 h 5	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Artère 2 gr. 55} \\ \text{Veine. 2 gr. 75} \end{array} \right.$

C'est une confirmation des faits précédemment obtenus.

Action très manifeste de l'Insuline ; tandis que le membre témoin libère toujours de son sucre, sous l'influence de l'extrait pancréatique, le muscle, s'il ne fixe pas de glucose, n'en perd point ; les teneurs en sucre du sang artériel et veineux sont identiques, mais, déjà, après une heure et demie de circulation, l'activité de l'Insuline est épuisée, car le muscle insulé se comporte exactement de la même façon que celui du membre opposé.

Nous avons complété notre expérience par l'épreuve de la glycolyse « in vitro », faite sur le même modèle que l'observation II. Mais, ici, notre liquide contient très peu de sang. Nos dosages nous donnent les chiffres suivants :

	An début	Après 3 h. 15
Le même + Insuline inactivée	1 gr. 80	1 gr. 80
Le même + Insuline.....	1 gr. 95	2 gr. 25
Liquide d'irrigation initial...	1 gr. 80	1 gr. 80

Bien que nous ne puissions expliquer cette augmentation de sucre, nous pouvons être assuré du moins que l'Insuline n'est pas un excitant de la glycolyse. Ce n'est donc pas à ce titre qu'elle amène la diminution du sucre dans le sang veineux.

OBSERVATION IV

CHIEN DIABÉTIQUE

Chienne en lactation, très robuste.

L'ablation du pancréas, essayée selon la technique de Hédon, n'est pas reconnue possible par suite de la situation très profonde de la queue du pancréas et de l'adhérence de la tête avec le duodénum sur une très grande longueur. Nous essayons une résection de l'anse duodénale en entier.

Après 48 heures, nous mettons l'animal en expérience, après nous être assuré par sondage de la vessie qu'il était réellement diabétique et très abondamment glycosurique.

On fait une prise de sang de 130 cc. à la carotide, le sang extrêmement visqueux coule goutte à goutte ; il est recueilli dans du citrate de soude et dilué à 1500 cc. avec du liquide de Locke, additionné de 5 gr. de sucre.

Dans les deux flacons réservoirs, on met 600 cc. ; l'un reçoit en plus 20 cc. d'Insuline, l'autre 20 cc. du même produit inactivé.

L'animal meurt quelque temps après que l'on a placé les canules artérielles et veineuses.

Nos dosages de glycémies nous donnent les chiffres suivants :

Membre Insulé			Membre Témoin		
Après 0 h 18 de circulation	{	Artère 4 gr. 56	Après 0 h 5	{	Artère 4 gr. 14
		Veine. 4 gr. 38			Veine. 4 gr. 38
0 h 53 —	{	Artère 4 gr. 38	0 h 30	{	Artère 3 gr. 84
		Veine. 4 gr. 38			Veine. 4 gr. 38
1 h 13 —	{	Artère 3 gr. 70	1 h 7	{	Artère 4 gr. 50
		Veine. 4 gr. 08			Veine. 4 gr. 68
1 h 48 —	{	Artère 3 gr. 84	1 h 35	{	Artère 4 gr. 20
		Veine. 4 gr. 68			Veine. 4 gr. 68
2 h 38 —	{	Artère 4 gr. 62	2 h 10	{	Artère 4 gr. 36
		Veine. 4 gr. 86			Veine. 5 gr. 28

Donc sans Insuline le sang veineux s'enrichit d'une quantité considérable de sucre.

Comme précédemment l'Insuline ne se montre active que tout à fait au début, puis montre un temps d'équilibre, de neutralité, et son action est encore plus vite éteinte que dans l'observation III. Après une heure tout son pouvoir semble annihilé.

Nous avons encore tenu à contrôler l'action glycolytique de ce sang très hyperglycémique : 6 gr. 35 de sucre dans le sang carotidien. Nous avons suivi exactement la technique précédente.

	A l'origine	Après 2 h.	Perte
Liquide d'irrigation initial...	3 gr. 84	3 gr. 42	0 gr. 42
Le même + Insuline.....	3 gr. 96	3 gr. 66	0 gr. 30
Le même + Insuline inactivée	4 gr. 02	3 gr. 72	0 gr. 30

Là encore l'Insuline semble être absolument neutre vis-à-vis de la glycolyse *in vitro*.

On est donc bien en droit d'attribuer le pouvoir glycopexique (?) du muscle irrigué à l'Insuline, uniquement à cette dernière.

Recherches complémentaires

Nos expériences orientées vers le but précis d'étudier la glycopexie musculaire, ayant toutes démontré l'action plus ou moins passagère de l'Insuline, ne nous ont pas permis de saisir avec certitude le problème de la glycogénie musculaire. Un dispositif spécial serait à prévoir ; mais ce serait en même temps se lancer à la poursuite des transformations du sucre ce qui est infiniment plus compliqué.

Profitant de nos animaux en expérience, nous avons essayé d'apporter à l'aide de l'Insuline, une faible contribution aux travaux de de Meyer, sur l'action qu'exerce la sécrétion interne du pancréas sur la perméabilité du rein au glucose. Cet auteur concluait que le rein pris en lui-même est un organe incapable de s'opposer à la filtration du glucose au travers de ses tissus. Son imperméabilité relative pour le sucre ne lui est conféré que par l'action d'agents extra-rénaux parmi lesquels il faut compter l'action des substances émises par le pancréas. Les extraits d'organes autres que le pancréas ne semblaient exercer aucune action spécifique sur cette perméabilité.

Les difficultés opératoires tenant à la situation très élevée des deux reins, à leur voisinage, à la fragilité de leur capsule, à la position profonde de l'artère par rapport à la veine, de même qu'à l'atmosphère adipeuse qui enveloppe le pédicule vasculaire, ne nous ont pas permis de réaliser encore dans les conditions

voulues les doubles circulations que nous nous proposons.

Mais nous avons pu, dans deux cas, réussir l'irrigation d'un seul rein. Nous pensons pouvoir en tirer quelques conclusions intéressantes, mais cependant avec quelques réserves puisqu'elles n'ont pas été contrôlées d'une façon absolue par un témoin compris dans le sens où nous l'entendons plus haut.

OBSERVATION V

CHIEN NORMAL

Nous avons essayé de combiner chez le chien normal l'action de l'Insuline à celle de la Phlorizine que l'on sait agir par abaissement du seuil du glucose (81). En effet, la perméabilité du rein au glucose doit être envisagée comme un affaissement de ses fonctions liminales.

Le chien était mort depuis près de 3 heures ; les opérations antérieures n'ont jamais été accompagnées d'anesthésie et sauf l'altération histologique que l'on peut juger faible, le rein irrigué pouvait être considéré comme encore vivant ; c'est l'opinion de de Meyer appuyée du reste sur un grand nombre de travaux antérieurs, en particulier ceux de Demoor.

Le liquide de circulation est celui qui fut constitué pour l'observation II, additionné de 0 gr. 02 de Phlorizine et de 5 cc. d'Insuline, la circulation assez lente est maintenue au goutte à goutte sous une pression de 10 cc. de Hg.

Le rein gonfle et il se forme quelques gouttes d'urine que l'on recueille par l'uretère.

Les dosages effectués sur le liquide de circulation et sur l'urine nous ont donné les résultats suivants :

Après 1 h 30 de circulation	Artère 1 gr. 60	Après 4 h	Artère 1 gr. 51
	Veine. 1 gr. 76		Veine. 1 gr. 34

L'urine recueillie avait une teneur en sucre de 0 gr. 50 par litre, était fortement albumineuse et contenait de l'urée.

Bien qu'à première vue ce résultat ne semble pas extrêmement concluant, il montre, néanmoins, que l'urine est bien moins riche en sucre que le liquide de circulation et l'action de la phlorizine y semble en partie neutralisée ; car l'urine recueillie est le résul-

tat d'un contact prolongé, pendant près de quatre heures, du liquide d'irrigation avec les éléments rénaux ; dialyse élective où l'Insuline semble jouer son rôle.

Nous devons signaler aussi que la présence de Na Cl suffirait elle seule à déclancher la glycosurie ainsi qu'on le sait bien depuis Cl. Bernard.

OBSERVATION VI

CHIEN DIABÉTIQUE

L'irrigation n'a pu être réussie que dans un seul rein, sur l'animal de l'observation III et avec le même liquide de circulation, c'est-à-dire sang diabétique et liquide de Locke additionné d'Insuline.

Après deux heures de circulation rapide, le sang coulait en filet à la température ambiante : 22°-23°.

On recueille environ 1 cc. d'urine ambrée, fortement albumineuse, et ne contenant que des traces de sucre, alors que l'urine normale de ce chien, prélevée dans la vessie, contenait 13 gr. 60 de sucre par litre.

Bien qu'assez éloignés des conditions physiologiques et en l'absence du contrôle témoin, nous sommes en droit de formuler une confirmation des conclusions de de Meyer : La sécrétion interne du pancréas joue un rôle sur la fonction liminale du rein et contribue à assurer l'imperméabilité du rein au glucose.

Critique et Essai d'Interprétation

Tels sont les faits que nous apportons.

Nous pensons avoir opéré d'une façon satisfaisante surtout dans nos expériences de glycopexie musculaire et nous croyons être à l'abri des critiques adressées aux travaux antérieurs quant à la réaction du milieu, à sa complexité, par le fait que l'expérience témoin, faite sur le même animal, dans les mêmes conditions de temps, nous éliminait ces facteurs secondaires.

Il est aisé de voir que l'analyse blocale des phéno-

mènes que l'on pourrait faire en pratiquant des dosages, seulement au commencement et à la fin de l'expérience, rendrait mal compte de la complexité des faits. En effet ce n'est qu'en répétant les dosages que l'on peut suivre la courbe de la disparition du glucose, d'abord très marquée puis nulle, puis négative.

Nos circulations étant assez rapides, bien que l'on n'ait pas mesuré exactement la durée de contact avec les tissus, de l'onde artérielle initiale, c'est bien là un phénomène qui se passe dans la profondeur des muscles et assez rapidement.

Il nous semble intéressant aussi de signaler un fait que nous n'essaierons pas d'expliquer mais qui peut semble-t-il se rattacher à une hypothèse que nous exposerons tout à l'heure. La glycémie du sang veineux recueilli au sortir de la veine n'est jamais identique à celle du sang artériel qui en résulte ; car, ainsi que nous l'avons expliqué au début, le sang veineux est remonté après contact avec l'air et versé dans le flacon réservoir d'où le siphon fait écouler le liquide qui devient artériel. Et le sens des différences varie suivant que l'on a affaire à un sang diabétique ou à un sang normal. C'est là une observation presque constante dans nos tableaux de dosage. Dans son contact avec l'air pendant quelques minutes le sang veineux *normal* qui s'artérialise semble retrouver un peu de son pouvoir réducteur perdu ; il reprend du glucose abandonné.

Au contraire le sang *diabétique* veineux perd encore du sucre à l'air en redevenant artériel. Et cependant

on ne peut incriminer la glycolyse sanguine ainsi que le démontrent nos observations sur ce point précis.

Tenter une explication nous semble très hasardeux; elle ne pourrait être que très hypothétique.

Nous démontrons dans cette thèse que le muscle capte le glucose sous l'influence de la sécrétion interne du pancréas; qu'en fait-il? Aucune réponse satisfaisante ne peut encore être fournie.

En effet nous avons vu que l'hypoglycémie qui suit l'injection d'Insuline ne relève pas le quotient respiratoire: il n'y a donc pas consommation (Voir note page 65).

La transformation en glycogène si l'on s'en réfère aux travaux américains ne peut être envisagée. Nous avons déjà rapporté plus haut leurs conclusions: l'Insuline produit une augmentation du glycogène hépatique et une diminution du glycogène musculaire. Mac Cornick et O'Brien (82) ont aussi trouvé que l'Insuline empêchait la régénération du glycogène chez un animal à jeun soumis à un régime riche en Hydrate de Carbone.

Peut-on parler de la transformation du sucre en graisse? Bien qu'elle soit possible jusqu'à présent, rien ne nous permet de l'envisager comme une réalité.

Quelques auteurs se sont préoccupés de savoir si ce glucose ne subirait pas une modification dans sa constitution qui le masquerait à nos recherches par les méthodes classiques et lui permettrait ensuite de reprendre sa forme. C'est ainsi que Needam, Smith, Winter (83) ont cherché s'il n'y aurait pas isomérisa-

tion en inosite qui a la même formule brute mais possède un cycle fermé. Leurs observations furent contraires à leurs hypothèses.

Mais dans cette voie il est possible que de nouvelles solutions apparaissent.

Une des plus anciennes est celle de Lépine et Boudlud sur le sucre virtuel et le sucre combiné du sang.

D'autre part nos procédés de recherche et de dosage du glucose ne sont pas excessivement précis et les meilleurs sont fondés sur les propriétés réductrices de sa fonction aldéhyde. Or nous savons que les aldéhydes sont des « édifices moléculaires instables », selon le mot du Professeur Moureaux et l'organisme possède des ressources tellement variées que, *à priori*, rien ne s'oppose à la conception d'une modification chimique du glucose qui le rende indécélable à nos réactifs habituels.

A cette occasion nous allons très rapidement esquisser une nouvelle hypothèse, celle du sucre γ ayant pour base les observations de Tanret sur la multi-rotation des sucres.

Cet auteur, pour expliquer les oscillations du pouvoir rotatoire d'une solution de sucre très récente, avait été amené à établir qu'elles étaient dues à l'existence de deux glucoses de pouvoir rotatoire différents qu'il nommait α et β et auxquels il assignait des formules dérivées de la formule du dextrose, avec des fonctions lactoniques. Cette théorie a suggéré l'idée qu'il y aurait peut-être aussi une autre forme de glucose, espèce γ , autre isomère. C'est celui-là qui serait le glucose de l'organisme, et le seul qui puisse

être utilisé dans la profondeur des tissus ; sélection bien compréhensible depuis les travaux de Pasteur sur les acides paratartriques, montrant l'affinité spéciale des moisissures pour un certain acide.

Le diabétique est devenu incapable d'utiliser le glucose, mais c'est peut-être parce que celui-ci ne correspond pas à ses affinités. L'organisme ne serait plus capable de modifier la constitution du sucre banal pour se l'adapter. Faut-il voir là une fonction essentielle de l'hormone pancréatique ?

Hypothèse déjà formulée sur un autre mode par de Meyer qui, constatant l'utilisation du lévulose chez le diabétique, dont celui-ci peut former du glycogène alors qu'il est incapable de métaboliser le glucose, conçoit dans la fonction glycogénique du foie une première fonction transformant les aldoses en céto-ses, c'est-à-dire mutant le glucose aldéhydique en lévulose cétonique et une deuxième fonction polymérisant en glycogène les sucres cétoniques. Le diabétique, précisément, ne posséderait plus la première fonction.

Mais Winter et Smith (84) auraient vu l'Insuline transformer le glucose banal α et β en glucose γ en présence d'un extrait de foie. Confirmation en est faite par Slosse (85) qui a constaté le même fait en l'absence d'extrait hépatique.

Ce sucre γ a un pouvoir réducteur identique à celui des deux autres, tandis que son pouvoir rotatoire leur est inférieur quand ils arrivent à s'équilibrer dans une solution un peu ancienne. Mais il aurait en outre une instabilité particulière, surtout en présence des agents d'oxydation.

Clark avait déjà constaté quelque chose du même ordre, une solution de glucose traversant un pancréas n'était pas modifiée dans son pouvoir réducteur, mais perdait beaucoup de son pouvoir rotatoire initial.

Iscovesco et Bouge (86) signalent aussi qu'une solution de glucose additionnée d'Insuline et portée 2 heures à l'étuve à 30° ne change pas quant à son pouvoir réducteur, mais son pouvoir rotatoire en sort diminué de 30 0/0.

Ce sont là des hypothèses très séduisantes, auxquelles pourraient se rattacher les faits signalés plus haut. La variation du pouvoir réducteur par le simple contact de l'air pourrait être conçue comme la libération d'un isomère du glucose par oxydation. Nous n'insistons pas, le terrain est trop mouvant.

De la brillante découverte des auteurs canadiens, Banting, Best et Macleod, il résulte donc qu'avec un agent thérapeutique très actif, ils nous ont donné le moyen de pénétrer plus avant dans l'intimité de la chimie cellulaire, en ce qui concerne le métabolisme des Hydrates de Carbone et peut-être nous ont-ils mis sur la voie de la curabilité du diabète.

Notre thèse étant sous presse, nous prenons connaissance des travaux de Guy Laroche (C. R. Soc. Biol. 15 Décembre 1923 et 18 Janvier 1924) qui confirment cet abaissement du Q. R. chez le diabétique, dans la phase d'hypoglycémie, même après absorption de glucose. Le fait est surtout net chez le diabétique hyperglycémique

Hédon (même réter.) n'observe chez le chien dépancréaté, et insulé, qu'une très faible augmentation du Q. R. Son expérience n'a pas la même valeur, car la détermination du Q. R. porte sur une longue période de 6 heures, où l'animal enfermé a pu se livrer à un certain exercice musculaire, faussant le rapport.

CONCLUSIONS

I. — L'Insuline, extrait alcoolique de pancréas frais, préparé de façon à être privé de la sécrétion externe de cette glande, possède toutes les propriétés attribuées à la sécrétion interne du pancréas.

II. — Le mécanisme de l'hypoglycémie consécutive à l'injection d'Insuline ne peut être expliqué par une exagération temporaire de la consommation du sucre, ou de la glycolyse sanguine.

III. — Par contre, cette disparition du sucre dans l'organisme peut être envisagée comme le résultat de phénomènes se passant au niveau du muscle sans que nous puissions en fournir une explication à l'heure actuelle.

IV. — La méthode des circulations artificielles peut être utilisée pour tenter d'élucider le problème. Elle n'aura de valeur qu'à la condition d'être toujours contrôlée par des expériences-témoins simultanées. L'expérience principale étant réalisée sur des organes (reins) ou régions (membres inférieurs) symétriques d'un même sujet, à l'aide d'une technique opératoire rigoureuse.

V. — Dans nos conditions expérimentales, le muscle de l'animal vivant est incapable d'utiliser le glucose apporté par le liquide d'irrigation de la circulation artificielle. Il lui en cède au contraire, ainsi qu'il résulte de la comparasion des glycémies artérielles et veineuses.

VI. — Si au liquide d'irrigation, on ajoute de l'Insuline, cette substance inverse le phénomène: le sang veineux contient moins de glucose que le sang artériel.

VII. — L'Insuline agit de même, mais avec une moins grande intensité chez le sujet rendu diabétique par dépancréatization.

VIII. — Cette action hypoglycémiant de l'Insuline est passagère; elle s'épuise après un certain temps, variable avec les sujets.

Dans le diabète expérimental, cette période est sensiblement plus courte; elle diminue progressivement et parallèlement à l'accentuation de la maladie

IX. — En outre, l'Insuline semble conférer au rein une imperméabilité vis-à-vis du glucose, probablement par excitation de sa fonction liminale.

Vu :	LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
LE DOYEN,	ARLOING.
J. LÉPINE	

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 11 Janvier 1924.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
CAVALIER

BIBLIOGRAPHIE

1. — LÉPINE. — *Le Diabète sucré*, 1909, Alcan.
2. — LANCEREAUX. — *Bull. de l'Acad. Médecine*, 1877.
3. — V. MEHRING et MINKOWSKI. — *Centralblatt für Klinische Med.*, 1889.
4. — LÉPINE. — *Lyon Médical*, 1889.
5. — MINKOWSKI. — *Berliner Klinische Wochenschrift*, 1892.
6. — HEDON. — *Archives de Physiologie*, 1892.
7. — THIROLOIX. — *Le Diabète pancréatique. Thèse*, Paris, 1892.
8. — CHAUVEAU. — *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1856.
9. — LÉPINE. — *Le Sucre du Sang*, 1921, Alcan.
10. — GLEY. — *C. R. Acad. des Sciences*, 1891.
Les Sécrétions internes. Baillière, Paris, 1921.
11. — E. LAGUESSE. — *C. R. de la Société de Biologie*, 29 juillet 1893.
Journal de l'Anatomie et de la Physiologie, 1894-1895.

12. — SSOBOLEW. — *Centralblatt für allg. Pathol. Anat.*, 1900.
Virchow's Archiv, 1902.
13. — SCHULZE WALTER. — *Arch. für mik. Anat.*, 1900.
14. — LÉPINE et BARRAL. — *C. R. de l'Acad. des Sciences*,
juin 1891.
15. — LÉPINE. — *Revue de Médecine*, 1894.
16. — MARTZ. — *Physiologie du Foie. Thèse*, Lyon, 1898.
17. — DE MEYER. — *Archives internationales de Physiologie*,
1909-1910.
Ann. Soc. des Sciences Méd. et Natur. Bruxelles,
1906.
Ann. Inst. Pasteur. Paris, 1908.
18. — DE MEYER. — *Archives internationales de Physiolo-*
gie, 1910.
19. — MONTUORI. — *Riforma medica*, 1895.
20. — KLEINER. — *J. of. biol. Chem.*, 1919 et 1920.
21. — PAULESCO. — *Traité de Physiologie médicale*, t. II.
Paris-Bucarest, 1921.
22. — RENNIE et FRASER. — *Biochem. Journ.*, 1907.
23. — LASSANCE. — *Les opothérapies dans le diabète sucré.*
Thèse, Paris, 1895.
24. — ZUELZER. — *Zeitschr. f. experim. Path.*, 1908.
25. — SCOTT. — *Amer. J. of Physiol.*, 1911-1912.
26. — AMBARD. — *Assoc. franç. d'Urologie*, 1919.
27. — CHABANNIER. — *Presse médicale*, 1920 (24 avril).
28. — ACHARD-RIBOT et L. BINET. — *C. R. Soc. de Biologie*,
5 juillet 1919.
29. — GARDIN. — *Recherche d'une sécrétion interne du*
pancréas. Th., Paris, 1923.

30. — GLEY. — *C. R. Soc. de Biol.* 23 décembre 1922.
C. R. Soc. Biol., 1891-1892.
Diabète pancréatique expérimental. Essai de traitement. *Ann. de la Soc. Médic. de Gand*, 1900.
31. — HÉDON. — *C. R. Soc. Biol.*, 1913.
32. — ALEXANDER U. EHLMANN. — *Zeitschr. f. exper. Path.*, 1908.
33. — CLARK. — *J. exper. Méd.*, 1916-1917.
34. — CARLSON et DREMAN. — *Amer. J. Of. Physiol*, 1911.
35. — MURLIN et KRAMER. — *J. Biol. chem.*, 1913 et 1916.
36. — FALTA. — *Wien-Klin. Woch.*, 1907.
37. — BIEDL. — *Wien-Klin. Woch.*, 1907.
— *Innere Sekretion*, 1916.
38. — KUMAGI et OSATO. — *The Tohoku. J. Of. experim. med.*, 1920.
— *C. R. Soc. Biol.*, 1919.
39. — DIAMARE. — *Internationale Monatschrift, f. Anat. u. Physiol.* 1899.
40. — DIAMARE et KALIABKO. — *Centralblatt Physiol.*, 1904.
41. — ARON. — *C. R. Soc. Biol.*, 1920-1923.
42. — MACLEOD. — Insulin and Diabetes. *The British Medical Journal*, 4 novembre 1922.
43. — BIGWOOD. — *Bruxelles-Médical*, 22 mars 1923.
44. — LAGUESSE (E). — *Revue Française d'Endocrinologie*, septembre 1923.
BENOIT. — *Revue Française d'Endocrinologie*, septembre 1923.
45. — LYONNET. — L'Insuline. *Lyon-Médical*, 10 décembre 1923.
46. — DELEZENNE, HALLION et S. LEDEBT. — *Presse Médicale*, 24 novembre 1923.

47. — BAUDOIN-BIERRY. — *Le Journal Médical Français*, septembre 1923.
48. — BANTING et BEST. — *The Journ. Of. Laboratory à. Clinical Médecine*. St-Louis, février 1922.
49. — BANTING, BEST, COLLIP, CAMPBELL, FLETCHER. — The canadian Médical Association. *Journal* mars 1922
50. — BANTING, BEST, COLLIP, FLETCHER, MACLEOD et NOBLE. — Transactions the Association of American physicians, 1922.
51. — BANTING, BEST, COLLIP, MACLEOD et NOBLE. — *The American Journ. Of. Physiology*, 1922.
52. — MACLEOD. — *The Journ. Of. métabolic research Morristown* (New Jersey), août 1922.
53. — SCHAEFFER. — Les sécrétions internes, 1921.
54. — CONGRÈS DE BORDEAUX. — 27-29 septembre 1923.
55. — FABRE. — *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 16 nov. 1923.
56. — COLLIP. — *Journ. Biol. Chem.* LV, 1923.
— *Journ. Am. Med. Ass.* LXXX, 1923.
- 57 — DUDLEY. — *Bioch. J.*, XVII, 1923.
58. — MACKENSIE-WALLIS. — *The Lancet*, 2 décembre 1922.
59. — CHABANNIER, LOBO-ONELL et M. LEBERT. — *Bulletin Médical*, juin 1923.
— *Bulletin Soc. Chir. Biol.*, 1923.
60. — CLOUGH, ALLEN et MURLIN. — XI Inter. Congr. Physiol. Edimbourg, 1923.
61. — DOISY, SOMOGY et SCHAEFFER. — *Journ. Biol. Chem.* LV, 1923.
62. — SIMONET. — Conférence Société de Chim. Biol., 6 nov. 1923.

63. — PENAU et SIMONET. — *Journ de Pharm. et de Chimie*,
1^{er} décembre 1923.
64. — KELLAWAY et HUGUES, EADIE et PEMBER. — In Dele-
zenne Hallion, *Presse Médicale*, novembre 1923.
65. — EADIE, MACLEOD et NOBLE. — Insulin a. glycolysis.
Amer Journ. Of. Physiol., août 1923.
66. — PAVY. — *The Lancett*, 1877.
67. — CHAUVEAU et KRAUFMANN. — *C. R. Acad. d. Sc.*, 1886.
68. — LÉPINE. — Le sucre du sang. *Alcan*, 1921.
BARRAL. — Sur le sucre du sang. *Thèse Lyon*, 1890.
69. — LÉPINE. — *Revue de Médecine*, 1891.
70. — HUGH MAC GUIGAN. — *Procced. Amer. Soc. Biol. Che-
mistry*, 1908.
71. — KUOWLTON et STARLING. — *Journal of Physiology*, 1912.
72. — CRUIKBANG et PATTERSON. — *Journ. Physiol.* LXVII.
73. — RONA et WILENKO. — *Bioch. Zeitschr.*, 1914.
74. — ADMOND CLARK. — *Journ. Of. Exper. Méd.*, 1916.
75. — HEPBURN et LATCHFORD. — *Th. Amer. Journ. of. Phy-
siol.*, 1912.
76. — GIGON et MASSINI. — *Bioch. Zeitschr.*, LV.
77. — DE MEYER. — *Loc. cit.*
78. — DEMOOR. — *Acad. Royale Belge de Médecine*, 1904-
1906-1907.
79. — VANDEPUT. — *Archives Internat. de Physiol.*, 1910.
80. — FONTÈS et THIVOLLE. — Dosage manganométrique du
glucose. *C. R. Soc. Biologie*, 16 avril 1921.
81. — CHABANNIER et Marg. LEBERT. — *Bull. Soc. d'Urologie*.
décembre 1919.

82. — MAC CORNICK, MACLEOD, NOBLE, O'BRIEN. — Experiments on the mechanism of action of Insulin.
Proc. Amer. Journ. of. Physiol., février 1923.
— *Journ. of. Physiol.*, mars 1923.
83. — NECDHAUS, SMITH. WINTER. — « Insulin and Inositol. »
Journ. of. Physiol., juillet 1923.
84. — WINTER et SMITH. — *Journ. of. Physiology*, 1923.
T. LVII, p. 100.
— *Brit. Med. Journ.*, 12 janvier 1923.
85. — SLOSSE. — *C. R. Soc. Biol.*, 2 juin 1923.
86. — ISCOVESCO et BOUGE. — XVII^e Congrès Français de
Médecine de Bordeaux, septembre 1923.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	9
INTRODUCTION	11
CHAPITRE PREMIER. — Evolution des Connaissances sur le Diabète Pancréatique	13
CHAPITRE II. — Origine de l'Insuline	22
CHAPITRE III. — Préparation et Titrage de l'Insuline.	29
CHAPITRE IV. — Travaux personnels	34
CONCLUSIONS	67
BIBLIOGRAPHIE	71

